**Iranian Journal of Animal Science Research**
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

**Research Paper**
**Vol. 14, No. 2, Summer 2022, p. 295-303**

# Evaluation of hydroalcoholic extract of *Glaucium flavum* on hematological parameters in male rat

**Shohreh Alian Samakkhah[1*], Kiavash Houshmandi[2,3], Farid Hashemi[4], Sima Orouei[5], Ebrahim Rahmani Moghadam[6]**

Received: 05-04-2020
Revised: 09-08-2021
Accepted: 16-08-2021
Available Online: 14-09-2022

**How to cite this article:**
Alian Samakkhah, Sh., K. Houshmandi, F. Hashemi, S. Orouei and E. Rahmani Moghadam. 2022. Evaluation of hydroalcoholic extract of *Glaucium flavum* on hematological parameters in male rat. Iranian Journal of Animal Science Research, 14(2):295-303.
DOI: 10.22067/ijasr.2021.38282.0

**Introduction** Medicinal plants have a long history of treating different diseases. Glaucium flavum (yellow horned poppy) is a summer-flowering plant in the family Papaveracae. It is native to Northern Africa, Macaronesia, temperate zones in Western Asia, and the Caucasus, as well as Europe. It has thick, leathery deeply segmented, wavy, bluish-grey leaves, which are coated in a layer of water-retaining wax. Yellow Horne Puppy (YHP) is an alkaloid medicinal plant with a high content of antioxidants and anti-inflammatory properties. This study aimed to evaluate the effect of hydro-alcoholic extract of Yellow Horne Puppy on some hematological indices in male rats compared with vitamin C. Vitamin C is an electron donor, and this property accounts for all its known functions. As an electron donor, vitamin C is a potent water-soluble antioxidant in humans.

**Materials and Methods** In this experimental study, 36 adult male Wistar rats were randomly divided into six groups (six rats in each group): (1) The first group (control) did not receive any dose, and the experimental groups (2) treated with oral administration of 250 mg/kg of yellow horned poppy extract, (3) treated with Intra-peritoneal (IP) administration of 250 mg/kg of the extract and 100 mg/kg of vitamin C, (4) treated with IP administration of 100 mg/kg of vit C, (5) treated with oral administration of 500 mg/kg of extract, (6) treated with oral administration of 200 mg/kg of vit C. Thirty days after administration following induction of anesthesia and taking blood from the heart of rats, blood samples were collected and hematological parameters measurement including red and white blood cells, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, Red blood cell distribution width and platelets measured by a Hematology Auto Analyzer. The obtained data were subjected to the Shapiro-Wilk test for normality. Results were analyzed statistically by SPSS software version 22 and the One-way ANOVA test with Bonferroni post hoc test. Mean ± SD was considered significant if ($P<0.05$).

1- Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies (AUSMT), Amol, Iran.
2 - PhD. Student, Department of Food Hygiene and Quality Control, Division of Epidemiology & Zoonoses, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
3-Kazerun health technology incubator, Shiraz University of medical sciences, Shiraz, Iran.
4- Department of Comparative Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
5- Msc, Department of Genetics, Islamic Azad University, Tehran Medical sciences Branch, Tehran, Iran.
6- Msc, Department of anatomical sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
*Corresponding Author Email: Shohre.alian@ut.ac.ir

**Results and Discussion** Medicinal plants have natural ingredients and many of these plants have fewer side effects. Because the most important known factor in yellow horned poppy is its alkaloids. The most important alkaloids of this plant include Glaucine, Berberine, Bolbucapanine, and Protopine. Glaucine is an alkaloid that has been shown to have antioxidant properties and can protect against double bond fatty acids against free radical-mediated peroxidation. Due to our result, the oral consumption of yellow horned poppy significantly increased the number of Neutrophils (76.84±14.02) and, decreased Lymphocytes (18.41±9.58). Elevated blood neutrophils due to the induction of stressful conditions and stimulation of the immune system. In this sense, these factors not only raise white blood cells but also affect other blood parameters but, in this study, Changes in white blood cell counts due to oral administration and injecting vitamin C have been shown to stimulate the immune system. Injection of vitamin C showed a significant increase in monocytes (4.16±0.75). The number of red blood cells among the groups under study showed no decreasing or increasing effect ($P>0.05$). Hb and MCH increased with both oral and IP administrated extracts. IP administration of YPH+vit C has led to a decrease in MCH and MCHC (17.56±0.66, 33.76±0.80). Platelets were also significantly increased by IP administration of Extract of Glaucium Flavum+ vitamin C (351000±126714). The rate of RDW was reduced by oral administration of YPH and injection (13.01±1.35, 12.73±0.53). Glaucium flavum contains Glaucine, an alkaloid similar in effect to codeine, in that it has cough suppressant activity but without being addictive. Glaucine is an alkaloid found in several different plant species such as Glaucium flavum, Glaucium oxylobum, Croton lechleri, and Corydalis yanhusuo. It has a bronchodilator and anti-inflammatory effects, acting as a PDE4 inhibitor and calcium channel blocker, and is used medically as an antitussive in some countries. Glaucine may produce side effects such as sedation, fatigue, and a hallucinogenic effect characterized by colorful visual images and has recently been detected as a novel recreational drug.

**Conclusion** The findings of this study reveal that Oral administration of the yellow horned poppy extracts can have a good effect on blood parameters, as same as vit C, due to its antioxidant properties. Therefore, this plant extract can be used in the treatment of many diseases.

**Keywords:** Glaucium flavum Crants, Hematological Parameter, Rat, Vitamin C

**نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران**
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

**مقاله پژوهشی**

# بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی شقایق کوهی (*Glaucium flavum*) بر پارامترهای هماتولوژیک در موش صحرایی نر

**شهره عالیان سماک خواه[۱*]، کیاوش هوشمندی،[۲،۳]، فرید هاشمی[۴]، سیما اروئی[۵]، ابراهیم رحمانی مقدم[۶]**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۵/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۲۵

عالیان سماک خواه، ش، ک. هوشمندی، ف. هاشمی، س. اروئی، و ا. رحمانی مقدم. ۱۴۰۱. بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی شقایق کوهی (*Glaucium flavum*) بر پارامترهای هماتولوژیک در موش صحرایی نر. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۲):۳۰۳-۲۹۵.

## چکیده

شقایق‌کوهی سرشار از ترکیبات آلکالوئیدی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهاب است. مطالعه حاضر جهت تعیین تأثیر عصاره آبی_الکلی شقایق کوهی بر تابلوی خونی موش‌های صحرایی نر بالغ در مقایسه با ویتامین C صورت گرفت. در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی به ۶ گروه شش‌تایی تقسیم شدند: (۱)کنترل، (۲) تیمار با عصاره شقایق کوهی تزریقی با دوز ۲۵۰ mg/kg، (۳)تیمار با عصاره شقایق کوهی و ویتامین C تزریقی با دوزهای ۲۵۰ و ۱۰۰ mg/kg، (۴)تیمار با ویتامین C تزریقی با دوز ۱۰۰ mg/kg ، (۵)تیمار با عصاره خوراکی شقایق کوهی با دوز ۵۰۰ mg/kg و (۶)تیمار با ویتامین C خوراکی با دوز ۲۰۰ mg/kg. پس از گذشت سی روز از تجویز عصاره و داروها، پارامترهای هماتولوژیک اندازه‌گیری شد. با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مصرف شقایق کوهی خوراکی باعث افزایش در تعداد نوتروفیل‌ها و کاهش لنفو سیت‌ها گردید. تزریق ویتامین C افزایش معناداری در مونو سیت‌ها نشان داد. Hb و MCH با مصرف عصاره خوراکی و تزریقی افزایش داشتند. مصرف همزمان ویتامین C با شقایق‌کوهی باعث کاهش MCH و MCHC شد. پلاکت‌ها نیز با مصرف عصاره خوراکی و تزریقی افزایش معناداری را نشان دادند. میزان RDW توسط مصرف خوراکی شقایق کوهی و تزریق آن کاهش یافت. نتایج نشان می‌دهد، عصاره گیاهی خوراکی می‌تواند همانند ویتامین C تزریقی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود تأثیر خوبی بر پارامترهای خونی داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پارامترهای خونی، شقایق‌کوهی، موش‌صحرایی، ویتامین C.

## مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان و کنترل بیماری‌ها در سرتاسر جهان و به خصوص ایران به طور چشمگیری افزایش یافته است. اشتیاق مصرف این داروها به وسیله مردم بنا به دلایل متفاوتی است که از میان آنها می‌توان به عدم موفقیت درمان بسیاری از بیماری‌های مزمن نظیر دیابت، فشارخون، آترواسکلروز با داروهای شیمیایی و یا اثرات جانبی مضر داروهای شیمیایی و بروز مقاومت بدن

۱- استادیار اپیدمیولوژی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.
۲- دانشجوی دکتری، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، بخش اپیدمیولوژی و بیماری های مشترک، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- مرکز رشد فناوری سلامت کازرون، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۴- گروه علوم زیستی مقایسه ای، دانشکده دامپزشکی ،دانشگاه تهران ،ایران
۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، ایران.
۶- دانش آموخته کارشناس ارشد علوم تشریح، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
(*نویسنده مسئول: Email: Shohre.alian@ut.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2021.38282.0

و میکروب‌ها در برابر بسیاری از داروها به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها اشاره نمود (Okpuzor *et al.*, 2009).

یکی از این گیاهان که به دلیل اهمیت دارویی و اقتصادی خود در دنیای داروسازی مورد توجه می‌باشد. سرده شقایق از تیره خشخاش می باشد. گونه شقایق کوهی (شقایق شاخدار زرد یا کلاتین) ( *Glaucium flavum* Crantz) یک گیاه یک‌ساله، دوساله یا چندساله با ظاهری غیرمعمول و دارای برگ‌های سبز مایل به زرد می‌باشد که در طول لبه‌های خود پیچیده و گره خورده‌اند (Bercu *et al.*, 2006). شقایقیان گیاهان علفی، با برگ‌های متناوب، بدون گوشوارک، دارای شیرابه آلکالوییدی می‌باشند. عمدتاً دو به ندرت سه تا چهار کاسبرگ دارند و کاسبرگ ریزان است. تعداد زیادی پرچم دارند، تخمدان زبرین، میوه کپسول یا خورجین است کلاله آنها به شکل‌های مختلف است (Carolan *et al.*,2006). در بهار و تابستان، ساقه‌های منشعب آن دارای گل‌های خشخاشی شکل می‌باشند که موجب بوجود آمدن کپسول‌های سیلیکی شکل دراز می‌شود. گل‌ها زرد رنگ با اندکی ته نارنجی رنگ می‌باشند (Bercu *et al.*, 2006). این گیاه بومی حاشیه دریای مدیترانه و دریای سیاه می‌باشد و در تمام مناطقی که آب و هوای آنها متأثر از دریای مدیترانه است، مشاهده می‌شود. محل رشد آن بیشتر در دامنه کوه‌ها و حاشیه نمک‌زارها می‌باشد (Bogdanov *et al.*, 2012). شقایق به طور معمول در اوایل تا اواسط بهار گل می‌دهد و آن را نشانه نشاط و سعادت می‌دانند (Ebadi, 2010). این گیاه سرشار از ترکیبات آلکالوئیدی مانند آپورفین (Aporphine)، پروتوپین (Protopine) و پروتوبربرین (Protoberberine) بوده که در این میان گلوسین (Glaucine) از زیر خانواده آپورفین مهم‌ترین ترکیب آلکالوئیدی آن است. آلکالویید ضد سرفه یا گلوسین مهم‌ترین ترکیب آلکالوییدی شناخته شده در G flavum است. گلوسین از دیدگاه فارماکولوژیک خواص گشاد کنندگی نای، ضدالتهابی و ضدسرفه دارد (Cortijo *et al.*, 1999). بربرین مشتق شده از پروتوبربرین، یکی دیگر از این آلکالوئیدها است که در بسیاری از گیاهان این تیره یافت می‌شود. کاربرد عمده بربرین در صنعت داروسازی به عنوان آنتی‌بیوتیک می-باشد. توانایی این آلکالوئید در کاهش قند خون زمانی کشف شد که از آن برای درمان اسهال در بیماران دیابتی استفاده می‌گردید (Zhang *et al.*, 2008).

ویتامین‌ها از جمله مهم‌ترین مواد مغذی هستند. ویتامین C یا آسکوروبیک اسید ترکیبی حلال در آب و البته بسیار حساس، دارای نقش‌های متابولیک متعددی از جمله اثر بر رشد، بازماندگی و جلوگیری از مرگ و میر، بهبود زخم‌ها، کاهش اثرات استرس و مقاومت در برابر عوامل پاتوژن و بهبود عملکرد تولید مثل می‌باشد (Dabrowski and Ciereszko, 2001). ویتامین C در واقع نوعی آنتی‌اکسیدان است که در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و رفع استرس اکسیداتیو نقش دارد همچنین موجب ورود مجدد آنتی‌اکسیدان‌های دیگر مانند ویتامین اورات‌ها به چرخه می‌شود (Aldana *et al.*, 2001).

سلول‌های خونی شامل گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها می‌باشند. اهمیت شناخت و ترکیب خون برای تشخیص علت بسیاری از بیماری‌ها حائز اهمیت است (Clodfelter, 1986). در مورد تأثیر این گیاه بر روی فاکتورهای خونی و این که هرگونه تغییر محسوسی در فاکتورهای خونی می‌توانند شناختی برای نوعی بیماری و زمینه ساز بیماری‌های خونی و بیماری‌های وابسته به آن شود بر این اساس، مطالعه حاضر جهت تعیین تأثیر عصاره آبی_الکلی گیاه شقایق کوهی بر تابلوی خونی موش‌های صحرایی نر بالغ در مقایسه با داروی ویتامین C صورت پذیرفت. در این مطالعه میزان پارامترهای خونی مانند MCV, MCH, ،WBC, RBC, PLT MCHC اندازه‌گیری شد.

## مواد و روش‌ها

تهیه عصاره هیدروالکی شقایق کوهی: ابتدا نمونه‌های گیاه شقایق کوهی در اوایل فصل بهار از مراتع اطراف شهرستان کازرون جمع‌آوری گردید. برای انجام مطالعه از گیاهان جمع آوری شده عصاره هیدروالکی تهیه شد. بدین منظور اندام‌های هوایی در سایه خشک سپس در آسیاب برقی پودر و جهت تهیه عصاره به آزمایشگاه انتقال داده شد. پودر حاصله را به نسبت ۵۰/۵۰ با آب و الکل اتانول ۹۶ درصد به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد به طوری که سطح پودر را بپوشاند. سپس آن را به کمک کاغذ صافی صاف نموده و در مرحله آخر در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد گذاشته شد تا آب و الکل تبخیر گردد و یک شیره قهوه‌ای غلیظ باقی بماند. از ۱۰۰۰ گرم وزن خشک گیاه ۱۰۰ گرم عصاره خالص به دست آمد. عصاره حاصل به منظور تجویز خوراکی و تزریقی آسان‌تر به ترتیب در نرمال سالین و آب مقطر حل گردید و به صورت روزانه با کمک گاواژ و سرنگ برای حیوانات گروه‌های مختلف تجویز گردید (Germano *et al.*, 2001).

گروه‌بندی حیوانات: پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که در بهار ۱۳۹۷، بر روی ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ با میانگین وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم به مدت ۳۰ روز انجام شد. در تمامی مراحل انجام این پژوهش مصوبات مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قانون مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. حیوانات مورد استفاده در این پژوهش، ابتدا توزین و سپس به خزانه‌های جداگانه انتقال یافتند. حیوانات به طور تصادفی به۶ گروه شش‌تایی به شرح زیر تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل که نرمال سالین دریافت کردند، (۲) عصاره شقایق کوهی را با دوز ۲۵۰ mg/kg بر حسب وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند، (۳) عصاره شقایق کوهی را با دوز ۲۵۰ mg/kg بر حسب وزن بدن را به صورت داخل صفاقی و پس از یک ساعت ویتامین C (شرکت تولید داروهای دامی ایران) را با

دوز ۱۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند، (۴) ویتامین C را با دوز ۱۰۰ mg/kg بر حسب وزن بدن به صورت داخل صفاقی دریافت کردند، (۵) عصاره شقایق کوهی را با دوز ۵۰۰ mg/kg بر حسب وزن بدن به صورت خوراکی دریافت کردند و (۶) ویتامین C را با دوز ۲۰۰ mg/kg بر حسب وزن بدن به صورت خوراکی دریافت کردند.

## نمونه‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی

خونگیری: در پایان دوره ۳۰ روزه موش‌ها با اتر( ساخت شرکت کیمیا مواد) بیهوش کرده و خونگیری از ناحیه بطن راست قلب انجام شد. خون در لوله های بدون ضد انعقاد جمع آوری شد.

شمارش کلی سلول‌های خونی (CBC): شمارش سلول‌های خونی شامل تعداد تام گلبول های سفید (WBC)، گلبول های قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT)، غلظت هموگلوبین (Hb)، میانگین حجم سلولی (MCV)، میانگین هموگلوبین سلولی (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC)، پهنای توزیع حجم گلبولی (RDW) و تعداد تام پلاکت ها (PLT) بود که توسط دستگاه شمارش گر خودکار سلولی(Hematology Auto Analyzer) شرکت Mindray، مدل BC-2800Vet انجام شد.

بررسی آماری : داده‌های مطالعه با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey در نرم افزار SPSS ویرایش ۲۲ مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت. همچنین (P<۰/۰۵) از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

**جدول ۱**– میانگین ± انحراف معیار گلبول‌های سفید (کلی و تفکیکی) خون در موش‌های صحرایی در گروه های مورد مطالعه (n=۶)

**Table 1-** Mean±SD WBC (Total and Partial) (g/l) in Male Rat in different groups (n=6)

| گروه Group | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| گلبول های سفید White blood cells | کنترل Control | شقایق کوهی تزریقی ۲۵۰ Injection of Extract of *Glaucium flavum* 250mg/kg | شقایق کوهی + ویتامین C تزریقی Injection of Extract of *Glaucium flavum*+ vitamin C | ویتامین C تزریقی ۱۰۰ Injection of vitamin C 100 mg/kg | شقایق کوهی خوراکی ۵۰۰ Oral use Extract of *Glaucium flavum* 500 mg/kg | ویتامین C خوراکی ۲۰۰ |
| گلبولهای سفید تام WBC[1] | $11.90^{a}$±3.71 | $8.28^{a}$±3.10 | $11.91^{a}$±1.60 | $8.21^{a}$±2.51 | $15.10^{a}$±8.94 | $9.35^{a}$±3.49 |
| لنفوسیت Lym[2] | $58.66^{a}$±10.83 | $24.66^{ab}$±30.53 | $54.33^{a}$±13.44 | $52.50^{a}$±18.60 | $18.41^{b}$±9.58 | $24.50^{ab}$±17.47 |
| ائوزینوفیل Eos[3] | $0.50^{a}$±0.54 | $2.50^{a}$±4.80 | $0.50^{a}$± 0.54 | $1.00^{a}$±0.63 | $1.16^{a}$±0.53 | $1.00^{a}$±0.89 |
| نوتروفیل Neu[4] | $35.33^{a}$±9.83 | $42.66^{ab}$±53.15 | $44.33^{ab}$±12.30 | $44.33^{ab}$±18.07 | $76.84^{b}$±14.02 | $73.50^{b}$±18.32 |
| مونوسیت Mon[5] | $5.50^{a}$±1.22 | $2.00^{b}$±0.60 | $2.16^{b}$±0.40 | $4.16^{ac}$±0.75 | $4.33^{ac}$±3.44 | $2.50^{bc}$±0.50 |

[a,b] حروف الفبا متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

[a,b] The different superscripts in the same row indicate significant differences (P < 0.05) between treatment groups.
[1] Total White blood cell
[2] Lymphocyte
[3] Eosinophil
[4] Neutrophil
[5] Monocyte

## نتایج و بحث

### نتایج میزان گلبولهای سفید:

از نظر تعداد کل گلبول‌های سفید حیوانات در بین شش گروه مورد مطالعه هیچ اثر کاهشی یا افزایشی را شاهد نبودیم (P>۰/۰۵) (جدول۱). اما در بررسی افتراقی گلبول‌های سفید، مصرف عصاره شقایق کوهی خوراکی (گروه۵) اثر کاهشی معنی‌داری بر تعداد لنفوسیت‌های خون نسبت به گروه تیمار با عصاره شقایق کوهی و ویتامین C تزریقی (گروه۳)، گروه تیمار با ویتامین C تزریقی (گروه ۴) و گروه کنترل دارد (P<۰/۰۵). از نظر میزان ائوزینوفیل تفاوت معنادار کاهشی یا افزایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵)(جدول۱). میانگین نوتروفیل‌های گروه تیمار با عصاره خوراکی شقایق کوهی (گروه۵) و

گروه تیمار با ویتامین C تزریقی به میزان ۲۰۰ میلی گرم (گروه ۶) افزایش معنی‌داری بر میزان نوتروفیل‌های خون نسبت به گروه کنترل دارد (P<۰/۰۵).

تیمارشدگان با عصاره شقایق کوهی تزریقی (گروه۲)، مصرف این عصاره + ویتامین C تزریقی (گروه۳) و مصرف ویتامین C خوراکی (گروه ۶) از نظر میزان مونوسیت‌ها کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند (P<۰/۰۵). ویتامین C تزریقی (گروه۴) و شقایق کوهی خوراکی (گروه ۵) باعث افزایش معنی‌دار مونوسیت‌ها نسبت به گروه تیمار با عصاره شقایق کوهی تزریقی(گروه۲) و گروه تیمار با عصاره شقایق کوهی+ویتامین C تزریقی(گروه۳) شد (P<۰/۰۵).

**نتایج میزان گلبول های قرمز و فاکتورهای خونی**:

تعداد گلبول‌های قرمز بین گروه‌های تحت مطالعه هیچ اثر کاهشی یا افزایشی نشان نداد (P>۰/۰۵). (جدول۲) میزان هموگلوبین خون حیوانات مورد مطالعه، در گروه شقایق کوهی تزریقی و خوراکی افزایش معناداری با گروه کنترل نشان دادند (P<۰/۰۵). میانگین حجم سلولی نشان داد که مصرف ویتامین C تزریقی اثر افزایشی معنی داری نسبت به گروه کنترل دارد (P<۰/۰۵). (جدول۲)

میانگین هموگلوبین (MCH) نمونه های خون موش‌های مورد مطالعه نشان داد که مصرف عصاره شقایق کوهی تزریقی (گروه ۲) و عصاره شقایق کوهی خوراکی(گروه۵) اثر افزایشی معنی‌داری در میزان غلظت هموگلوبین نسبت به گروه کنترل دارد (P<۰/۰۵).

**جدول ۲**- میانگین ± انحراف معیار گلبول قرمز خون و پارامترهای وابسته به آن در موش‌های صحرایی در گروه های مورد مطالعه (n=۶)

**Table 2-** Mean±SD Red blood cell and associated parameters in Male Rat in different groups (n=6)

| گروه Group / پارامتر Parameter | ۱ کنترل Control | ۲ شقایق کوهی تزریقی ۲۵۰ Injection of Extract of *Glaucium flavum* 250mg/kg | ۳ شقایق کوهی + ویتامین Cتزریقی Injection of Extract of *Glaucium flavum*+ vitamin C | ۴ ویتامین C تزریقی ۱۰۰ Injection of vitamin C 100 mg/kg | ۵ شقایق کوهی خوراکی ۵۰۰ Oral use Extract of *Glaucium flavum* 500 mg/kg | ۶ ویتامین C خوراکی ۲۰۰ Oral use vitamin C 200mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|
| گلبول قرمز RBC[1] | 8.49[a]±0.33 | 8.67[a]±1.11 | 7.64[a]±1.43 | 7.58[a]±0.81 | 8.56[a]±0.85 | 8.08[a]±0.79 |
| هموگلوبین Hb[2] (dl) | 14.88[a] ±0.77 | 16.51[b]±1.96 | 13.71[ab]±2.40 | 14.18[ab]±1.35 | 16.35[b]±1.87 | 14.25[ab]±1.36 |
| میانگین حجم سلولی MCV[3] (fl) | 51.05[a]±2.91 | 52.83[ab]±1.06 | 52.08[ab]±2.61 | 55.56[b]±2.26 | 54.81[ab]± 2.30 | 52.48[ab]±0.90 |
| میانگین هموگلوبین MCH[4] (pg) | 17.48[a]±0.92 | 18.91[b]±0.43 | 17.56[ac]±0.66 | 18.58[ab]±0.79 | 18.81[bc]±0.93 | 17.60[ab]±0.50 |
| میانگین غلظت هموگلوبین سلولی MCHC[5] (%) | 34.38[ac]±1.61 | 36.02[a]±0.95 | 33.76[bc]±0.80 | 34.18[bc]±0.75 | 34.60[ac]±0.86 | 33.83[bc]±1.36 |
| هماتوکریت HCT[6] | 43.30[a]±3.14 | 44.30[a]±4.90 | 40.03[a]±6.10 | 41.25[a]±4.44 | 47.06[a]±5.10 | 42.40[a]±4.76 |

[a,b]حروف الفبا متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

[a,b] The different superscripts in the same row indicate significant differences (P < 0.05) between treatment groups.

[1] Red blood cell

[2] Hemoglobin

[3] Mean cell volume

[4] Mean corpuscular hemoglobin

[5] Mean corpuscular hemoglobin concentration

[6] Hematocrit

همچنین مصرف هم زمان عصاره شقایق کوهی و ویتامین C تزریقی(گروه۳) اثر کاهشی معنی‌داری نسبت به گروه تیمار با عصاره شقایق کوهی تزریقی (گروه ۲) دارد (P<۰/۰۵) (جدول۲). نتایج میانگین غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) در گروه های مورد مطالعه نشان دادند که مصرف عصاره شقایق کوهی+ ویتامین C تزریقی (گروه۳)، مصرف ویتامین C تزریقی (گروه۴) و مصرف ویتامین C خوراکی (گروه ۶) اثر کاهشی معنی‌داری نسبت به گروه تیمار با عصاره شقایق کوهی تزریقی (گروه۲) را موجب می شود (جدول۲) (P<۰/۰۵). مداخله تجربی مطالعه بر روی میزان هماتوکریت هیچ اثر کاهشی یا افزایشی نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول۲).

میزان پهنای توزیع حجم گلبولی (RDW) در میان گروههای مورد مطالعه نشان داد که مصرف عصاره شقایق کوهی تزریقی و عصاره شقایق کوهی خوراکی اثر کاهشی معنی‌داری بر میزان RDW نسبت به گروه عصاره شقایق کوهی با ویتامین C تزریقی(گروه۳)، ویتامین C خوراکی (گروه ۶) و گروه کنترل دارد (P<۰/۰۵) (جدول۳). مصرف خوراکی عصاره شقایق کوهی با ویتامین C و هر یک به تنهایی به صورت خوراکی اثر افزایش معنی داری در میزان پلاکت‌ها نسبت به گروه کنترل داشت (P<۰/۰۵).

**جدول ۳**- میانگین ± انحراف معیار پهنای توزیع حجم گلومرولی (RDW) و پلاکت (PLT) در موش‌های صحرایی در گروه های مورد مطالعه (n=۶)

**Table 3**- Mean±SD Red cell distribution width and Platelet in Male Rat in different groups (n=6)

| گروه<br>Group<br><br>پارامتر<br>Parameter | ۱<br>کنترل<br>Control | ۲<br>شقایق کوهی تزریقی<br>۲۵۰<br>Injection of Extract of *Glaucium flavum* 250mg/kg | ۳<br>شقایق کوهی + ویتامین C تزریقی<br>Injection of Extract of *Glaucium flavum*+ vitamin C | ۴<br>ویتامینC<br>تزریقی<br>۱۰۰<br>Injection of vitamin C 100 mg/kg | ۵<br>شقایق کوهی خوراکی<br>۵۰۰<br>Oral use Extract of *Glaucium flavum* 500 mg/kg | ۶<br>ویتامین C<br>خوراکی<br>۲۰۰<br>Oral use vitamin C 200mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|
| توزیع حجم گلومرولی<br>RDW[1] | 14.85$^{a}$±1.38 | 12.73$^{b}$±0.53 | 14.58$^{a}$±2.47 | 14.38$^{a}$±1.07 | 13.01$^{b}$±1.35 | 14.65$^{a}$±1.11 |
| پلاکت<br>PLT[2] | 151167$^{a}$±67929.60 | 194167$^{a}$±64793 | 351000$^{b}$±126714 | ±71474<br>259833$^{ab}$ | 288667$^{b}$±49423 | 32284<br>292667$^{b}$± |

$^{a,b}$حروف الفبا متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

$^{a,b}$ The different superscripts in the same row indicate significant differences (P < 0.05) between treatment groups.

[1] Red cell distribution width

[2] Platelet

خون بافت مایع بدن است که از دو قسمت پلاسما و عناصر سلولی تشکیل شده است. پلاسما شامل آب، پروتئین‌ها، هورمون‌ها، کربوهیدرات‌ها، الکترولیت آنزیم‌ها، لیپیدها، آنتی‌ژن‌ها و نمک‌های معدنی می‌باشد. سلول-های خونی شامل گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها می‌باشند (Okpuzor *et al.*, 2009).

براساس نتایج مطالعه حاضر مصرف عصاره شقایق کوهی خوراکی و ویتامین C تزریقی باعث افزایش در تعداد نوتروفیل‌های (Neu) خون موش‌های صحرایی شد. تعداد لنفوسیت‌ها (Lym) نیز با مصرف شقایق کوهی خوراکی کاهش یافتند. همچنین تعداد منوسیت‌ها (Mon) با مصرف ویتامین C به صورت خوراکی و یا شقایق کوهی تزریقی کاهش یافتند. اما تزریق ویتامین C باعث افزایش معناداری در تعداد مونوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل نشان داد. بررسی‌های مطالعه حاضر نشان داد که میزان Hb و MCH با مصرف شقایق کوهی خوراکی و تزریقی افزایش یافت. تزریق ویتامین C به موش ها باعث افزایش در میزان MCV و MCHC شد. مصرف همزمان ویتامین با شقایق کوهی باعث کاهش MCH وMCHC گردید. میزان پلاکت نیز با مصرف شقایق کوهی هم به صورت خوراکی هم به‌صورت تزریقی افزایش معناداری را نشان داد. میزان RDW توسط مصرف خوراکی شقایق کوهی و تزریق آن کاهش یافت. میزان WBC، RBC ، HCT و تعداد ائوزینوفیل‌ها در این آزمایش تغییری را نشان ندادند.

داروهای شیمیایی عمدتاً با تقلید از فرمول داروهای گیاهی اما به صورت مصنوعی در آزمایشگاه‌های داروسازی تهیه می‌شوند در صورتی که اخیراً مشخص شده است برخی از انواع ترکیبات موجود در گیاهان که در آزمایشگاه به صورت خالص تهیه می‌شوند همراه با سایر ترکیبات موجود در گیاه به مصرف برسند، عوارض جانبی آن‌ها کاهش یافته و تنها اثرات مفید آن‌ها در شخص آشکار می‌شود (Mirzaee *et al.*, 2005). گیاهان دارویی دارای مواد طبیعی هستند و بسیاری از این گیاهان عوارض جانبی کمتری دارند. با توجه به اینکه مهم‌ترین فاکتور شناخته شده، تأیید شده و البته متنوع موجود در شقایق کوهی که مراکز تولید داروهای گیاهی بسیار پرکاربرد است آلکالوئیدهای آن می‌باشد. مهم‌ترین آلکالوئیدهای این گیاه شامل:

گلوسین، بربرین، بولبوکاپانین و پروتوپین می‌باشد. مهم‌ترین عملکرد شناخته شده آلکالوئیدهای فوق الذکر خاصیت ضدالتهابی آنها می باشد (Lapa et al., 2004). گلوسین آلکالوئیدی است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن به اثبات رسیده است و می‌تواند اسیدهای چرب باند مضاعف را در برابر پراکسیداسیون با واسطه رادیکال آزاد محافظت کند (Germano et al., 2001).

در مطالعه‌ای صورت گرفته بر روی اثر عصاره گیاه بیلهر بر پارامترهای هماتولوژیکی، نتایج بیان می‌کنند که در تمام گروه‌های تجربی درصد مونوسیت‌ها افزایش معنی‌داری داشت. همچنین میزان پلاکت کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد (Mokhtari et al., 2008). در این مطالعه نیز ویتامین C تزریقی باعث افزایش مونوسیت‌ها شد. همانطور که ذکر شد ویتامین C دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی می‌باشد. بیان (mcp-1) یا پروتئین جاذب شیمیایی مونوسیت‌ها که توسط اینترلوکین یک القا می‌شود تحت تأثیر آنتی-اکسیدان‌ها متوقف می‌شود. (mcp-1 ) از خانواده‌ی کموکین ها است و به طور اختصاصی جاذب و جلب کننده‌ی مونوسیت‌ها می‌باشد. این پروتئین اگر فعال باقی بماند باعث کوچک شدن و غیر طبیعی شدن مونوسیت‌ها می‌شود (Pignatelli et al., 2000). مهار بیان ایـن پروتئین توسط فلاونوییدها که نوعی آنتی‌اکسیدان هستند به این صورت می‌باشد کـه بـرای بیان این پروتئین وجود یک فـاکتور هـسته ای بنام NF-KB لازم می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها مسیرهای پیام رسـانی گونـاگونی را که به وسیله‌ی پـروتئین‌کینـاز و کینـاز وابـسته بـه کالمـدولین واسطه‌گری می‌شوند را متوقف و مهـار مـی‌کننـد و در نتیجـه باعث توقـف عمـل NF-KB می گردند. همچنین فاکتور هسته‌ای KB برای فعالیت نیاز به اکسید شـدن دارد کـه مواد با اثر آنتـی‌اکـسیدانی مـانع فعـال شـدن NF-KB می‌شوند و از طریق این فرآینـدها بیـان (mcp-1 ) مهار می‌شود و تعداد منوسیت ها افزایش می‌یابد (Pignatelli et al., 2000). درنتیجه به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی ویتامین C مونوسیت‌های خون افزایش یافتند. در مطالعه‌ای که در بالا ذکر شد گیاه بیلهر باعث کاهش پلاکت‌ها شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد. کاهش پلاکت ها را به دلیل وجود فلانوئیدهای موجود در گیاه بیلهر و مهار تولید ترومبوکسان A2 نسبت می دهند (Mokhtari et al., 2008).

افزایش تعداد نوتروفیل‌های خون در تحقیق اخیر با نتایج مطالعه انجام شده تأثیر ویتامین C بر بررسی سیستم ایمنی و فاکتورهای هماتولوژیک ماهی آزاد دریای خزر مطابقت دارد (Sayad Burani et al., 2015). در مطالعه فوق‌الذکر ماهیان تیمار شده با ویتامین C افزایش معنادار در تعداد گلبول های سفید از جمله نوتروفیل‌ها را نشان دادند. بالا رفتن نوتروفیل‌های خون در این دو مطالعه می‌تواند ناشی از سه مسئله القای شرایط استرسی و دیگری تحریک سیستم ایمنی و یا عفونت باشد. از این نظر این عوامل نه تنها باعث بالارفتن گلبول‌های سفید می‌شوند بلکه بر سایر پارامترهای خونی تأثیر دارند (Silva et al., 2009). در بررسی حاضر عامل عفونت و استرس وجود نداشت بنابراین تغییر میزان گلبول‌های سفید بر اثر خوراندن شقایق کوهی و تزریق ویتامین C بیانگر تحریک سیستم ایمنی بود.

تحقیقات عسکری و همکاران (Asgary et al., 2005) نشان می-دهد که آنتی اکسیدان‌ها، گلبول‌های قرمز خون را در برابر آسیب‌های اکسیدانی حمایت می‌کنند. گلبول‌های قرمز دارای لیپیدهای غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع هستند و هموگلوبین نیز کاتالیست قوی شروع اکسیداسیون است. از آنجایی که گلبول‌های قرمز خون بیشتر از هر بافتی در معرض آسیب‌های اکسیداتیو بوده و در بیماری‌هایی مثل دیابت این استرس‌ها بیشتر رخ می‌دهد، پراکسیداسیون لیپیدهای آن به همولیز گلبول‌های قرمز می‌انجامد. همچنین در گزارشات دیگر آمده است، حضور غلظت‌های مختلفی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی می‌تواند با مکانیزم‌های متعددی همولیز گلبول‌های قرمز خون را مهار کند. پس می‌توان نتیجه گرفت که حضور آنتی‌اکسیدان‌های موجود در شقایق کوهی باعث مهار لیز شدن گلبول‌های قرمز شده و در نتیجه میزان RBC و HCT بدون تغییر ماندند.

ابو–زایتون و صابر (Abu-Zaiton and Saber, 2010) در مطالعه‌ای گزارش کرد که تحریک اریتروپویتین، سریعاً سنتز گلبول‌های قرمز را افزایش می‌دهد همچنینMCH وMCHC که نیز به عنوان معیاری از غلظت هموگلوبین و ظرفیت حمل اکسیژن بیان می شوند نیز زیاد می‌شود در نتیجه شقایق کوهی خوراکی و ویتامین C تزریقی بررسی شده توانستند با تحریک اریتروپویتین سنتز هموگلوبین را افزایش دهند. در تحقیق انجام شده بر تأثیر گیاه جاشیر بر پارامترهای هماتولوژیکی در موش‌های دیابتی گزارش شده که تعداد گلبول های قرمز و سایر پارامترهای هماتولوژیکی که در حالت دیابت کاهش مشخصی داشتند، پس از تجویز عصاره گیاه جاشیر بهبود یافتند. که این بهبودی را به دلیل وجود آنتی‌اکسیدان‌هایی از جمله آلکالوئیدها و فلانوئیدهای عصاره جاشیر نسبت می‌دهند (Hojabrian and Mokhtari, 2015).

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به مطالعه انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که عصاره شقایق کوهی خوراکی و ویتامین C تزریقی عملکرد خوبی داشتند. همچنین این عصاره گیاهی می‌تواند همانند ویتامین C با خاصیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر مثبتی بر پارامترهای خونی داشته باشد.

## Refrences


1. Abu-Zaiton, A., and A. Saber. 2010. Anti-diabetic activity of Ferula assafoetida extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. Pakistan Journal of Biological Sciences, 13:97-107. 10.3923/pjbs.2010.97.100.
2. Aldana, L., V. Tsutsumi, A. Craigmill, M. I. Silveira, and E. Gonzalez de Mejia. 2001. α-Tocopherol modulates liver toxicity of the pyrethroid cypermethrin. Toxicology letters, 125:107-116. 10.1016/s0378-4274(01)00427-1.
3. Asgary, S., G. H. Naderi, and N. Askari. 2005. Protective effect of flavonoids against red blood cell hemolysis by free radicals. Experimental & Clinical Cardiology, 10:88-98. PMID: 19641665; PMCID: PMC2716227.
4. Bercu, R., M. Fãgãraş, and L. D. Jianu. 2006. Anatomy of the endangered plant *Glaucium flavum* Cr., occurring on the Romanian Black Sea littoral. Nature Conservation, 273-280. 10.1007/978-3-540-47229-2_28.
5. Bogdanov, M . G., I. Svinyarov, R. Keremedchieva, and A. Sidjimov. 2012. Ionic liquid-supported solid–liquid extraction of bioactive alkaloids. I. New HPLC method for quantitative determination of glaucine in *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae). Separation and Purification Technology, 97:221-227. 10.1016/j.seppur.2015.02.003.
6. Carolan, J. C., L. I. Hook, M. W. Chase, J. W. Kadereit and T. R. Hodkinson. 2006. Phylogenetics of Papaver and related genera based on DNA sequences from ITS nuclear ribosomal DNA and plastid trnL intron and trnL–F intergenic spacers. Annals of Botany, 98:141-155. 10.1093/aob/mcl079
7. Clodfelter, R. L. 1986. The peripheral smear. Emergency medicine clinics of North America, 4:59-74. 10.1016/S0733-8627(20)30982-2.
8. Cortijo, J., V. Villagrasa, R. Pons, L. Berto, M. Martí-Cabrera, M. Martinez-Losa, T. Domenech, J. Beleta, and E. J. Morcillo. 1999. Bronchodilator and anti-inflammatory activities of glaucine: In vitro studies in human airway smooth muscle and polymorphonuclear leukocytes. British journal of pharmacology, 127:1641-1651. 10.1038/sj.bjp.0702702.
9. Dabrowski, K. and A. Ciereszko. 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. Aquaculture research, 32:623-638. 10.1046/j.1365-2109.2001. 00598.x.
10. Ebadi, M. 2010. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine: CRC Press, Florida.
11. Germano, M. P., V. D'Angelo, R. Sanogo, A. Morabito, S. Pergolizzi, and R, De Pasquale. 2001. Hepatoprotective activity of Trichilia roka on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 53:1569-1574. 10.1211/0022357011777954 .
12. Hojabrian, S. M. and Mokhtari. 2015. The Effect of Prangos Ferulacea L on the Haematologic Indices of Diabetic Rats. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 5:168-184. 20.1001.1.22285105.2015.5.2.5.2.
13. Lapa, GB., OP. Sheichenko, AG. Serezhechkin, and ON. Tolkachev. 2004. HPLC determination of glaucine in yellow horn poppy grass (*Glaucium flavum* Crantz). Pharmaceutical Chemistry Journal, 38:441-442. 10.1023/B:PHAC.0000048907.58847.c6.
14. Mirzaee, A. M. H. Hakimi, and H. Sadeghi. 2005. Total antioxidant activity and phenolic content of Dorema aucheri. Iranian Journal of Biochemical Molecular Biology, 1:116-117.
15. Mokhtari, M., S. Sharifi, and A. Parang. 2008. Effect of alcoholic extract of Dorema auchrei on homogram in adult male rats. Journal of advances in medicine and biomedical research, 16:37-44. (In persian)
16. Okpuzor, J., H. A. Ogbunugafor, and G. K. Kareem. 2009. Hepatic and hematologic effects of fractions of Globimetula braunii in normal albino rats. Excli Journal, 8:182-189. 10.17877/DE290R-8900.
17. Pignatelli, P., F. M. Pulcinelli, A. Celestini, L. Lenti, A. Ghiselli, P. P. Gazzaniga and F. Violi. 2000. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide. The American journal of clinical nutrition, 72:1150-1155. 10.1093/ajcn/72.5.1150 .
18. Sayad Burani. M., H. Khara, M. Sayad Burani and S. M. Fakharzadeh. 2015. The Effect Of Vitamin C And E Supplement In Diet On The Growth And Immunological Parameters Of Caspian Salmon (Salmo Trutta Caspius). Iranian scientific fisheries journal, 23(4):85-96. 10.22092/ISFJ.2015.103171 .
19. Silva, B. C., M. L. Martins, A. Jatobá, N. Buglione, C. Celso, FN. Vieira, V. Pereira, T. Jerônimo, Q. Seiffert, and JP. Mouriño. 2009. Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. Pesquisa Veterinária Brasileira, 29:874-880. 10.1590/s0100-736x2009001100002.
20. Zhang, Y., X. Li, D. Zou, W. Liu, J. Yang N. Zhu, L. Huo, M. Wang, J. Hong, and P. Wu. 2008. Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 93:2559-2565. 10.1210/jc.2007-2404 .